



(51) МПК  
*A01N 25/30* (2006.01)  
*A01N 43/80* (2006.01)  
*A61P 1/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(52) СПК  
*A01N 25/30* (2006.01); *A01N 43/80* (2006.01); *A61K 2121/00* (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2015112009, 16.09.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 16.09.2013

Дата регистрации:  
 23.03.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
 18.09.2012 US 61/702,446;  
 19.03.2013 US 61/803,155

(43) Дата публикации заявки: 20.10.2016 Бюл. № 29

(45) Опубликовано: 23.03.2018 Бюл. № 9

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
 национальной фазе: 02.04.2015

(86) Заявка РСТ:  
 US 2013/059885 (16.09.2013)

(87) Публикация заявки РСТ:  
 WO 2014/046990 (27.03.2014)

Адрес для переписки:  
 105082, Москва, Спартаковский пер., д. 2, стр. 1,  
 секция 1, этаж 3, ЕВРОМАРКПАТ

(72) Автор(ы):

ГАНДИ Уша (US),  
 МАКИННИС Кристине (US),  
 ШУК Пол О. (US),  
 ШУЛЬТЦ Кристине М. (US),  
 УИЛЛЬЯМС Терри Майкл (US)

(73) Патентообладатель(и):

ДАУ ГЛОУБЛ ТЕКНОЛОДЖИЗ ЛЛК  
 (US),  
 РОМ ЭНД ХААС КОМПАНИ (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
 о поиске: US 4295932 A, 20.10.1981. EP  
 1767091 A2, 28.03.2007. WO 2007066111 A1,  
 14.06.2007. US 2008293615 A1, 27.11.2008. WO  
 2012068455 A1, 24.05.2012.

**(54) БАКТЕРИЦИДНЫЕ КОМПОЗИЦИИ**

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области медицины, а именно к дезинфектологии, и предназначена для подавления роста микроорганизмов или более высоких форм водной флоры и фауны. Водная бактерицидная композиция включает (а) 1,5 мас.% смеси 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она и (б) неионное ПАВ структуры RO(CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)O)<sub>x</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>H, где R означает C<sub>8</sub>алкильную группу, x равен 5, а y равен 9, причем массовое соотношение указанной смеси и указанного неионного ПАВ составляет 1:3,3. Использование группы изобретений позволяет повысить эффективность подавления и контроля роста микроорганизмов. 3 н. и 4 з.п.

и указанного неионного ПАВ составляет 1:3,3. Также обеспечивается синергетическая бактерицидная композиция, включающая (а) смесь 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она и (б) неионное ПАВ структуры RO(CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)O)<sub>x</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>H, где R означает C<sub>8</sub>алкильную группу, x равен 5, а y равен 9, причем массовое соотношение указанной смеси и указанного неионного ПАВ составляет 1:3,3. Использование группы изобретений позволяет повысить эффективность подавления и контроля роста микроорганизмов. 3 н. и 4 з.п.

R U  
2 6 4 8 3 5 6  
C 2  
C 6 5 3 8 4 2  
C 2

ф-лы, 7 табл., 12 пр.

R U 2 6 4 8 3 5 6 C 2

R U 2 6 4 8 3 5 6 C 2

RUSSIAN FEDERATION



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19)

RU

(11)

2 648 356

<sup>(13)</sup> C2

(51) Int. Cl.

A01N 25/30 (2006.01)

A01N 43/80 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A01N 25/30 (2006.01); A01N 43/80 (2006.01); A61K 2121/00 (2006.01)

(21)(22) Application: 2015112009, 16.09.2013

(24) Effective date for property rights:  
16.09.2013

Registration date:  
23.03.2018

Priority:

(30) Convention priority:  
18.09.2012 US 61/702,446;  
19.03.2013 US 61/803,155

(43) Application published: 20.10.2016 Bull. № 29

(45) Date of publication: 23.03.2018 Bull. № 9

(85) Commencement of national phase: 02.04.2015

(86) PCT application:  
US 2013/059885 (16.09.2013)

(87) PCT publication:  
WO 2014/046990 (27.03.2014)

Mail address:  
105082, Moskva, Spartakovskij per., d. 2, str. 1,  
sektsiya 1, etazh 3, EVROMARKPAT

(72) Inventor(s):

GANDI Usha (US),  
MAKINNIS Kristine (US),  
SHUK Pol O. (US),  
SHULTTS Kristine M. (US),  
UILLYAMS Terri Majkl (US)

(73) Proprietor(s):

DAU GLOUBL TEKNOLODZHIZ LLK (US),  
ROM END KHAAS KOMPANI (US)

R  
U  
C  
2  
C  
6  
5  
3  
8  
4  
2  
U  
R

2  
6  
4  
8  
3  
5  
6  
C  
2

(54) BACTERICIDAL COMPOSITIONS

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: group of inventions refers to medicine, namely to disinfectology, and is designed to suppress the growth of aquatic life and fauna microorganisms or higher forms. Aqueous bactericidal composition comprises (a) 1.5 % by weight of a 5-chloro-2-methyl-4-isothiazoline-3-one and 2-methyl-4-isothiazoline-3-one mixture and (b) 5 % by weight of a non-ionic surfactant containing C<sub>8</sub>alkyl group, 5 moles of propyleneoxide polymerized links and 9 moles of polymerized ethylene oxide links, wherein the said mixture and said non-ionic surfactant weight ratio is 1:1.

3.3. Synergistic bactericidal composition is also provided comprising (a) a mixture of 5-chloro-2-methyl-4-isothiazoline-3-one and 2-methyl-4-isothiazoline-3-one and (b) non-ionic surfactant structures RO(CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)O)<sub>x</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>H, where R is C<sub>8</sub> an alkyl group, x is 5, and y is 9, wherein the said mixture and said non-ionic surfactant weight ratio is 1:3.3.

EFFECT: use of a group of inventions makes it possible to increase the growth of microorganisms suppressing and controlling efficiency.

7 cl, 7 tbl, 12 ex

Настоящее изобретение относится к бактерицидным композициям, включающим 5-хлор-2-метилизотиазолин-3-он, 2-метилизотиазолин-3-он и ПАВ.

Композиция, включающая 5-хлор-2-метилизотиазолин-3-он, 2-метилизотиазолин-3-он и неионное ПАВ, описана в патенте US №4295932. Композиция содержит смесь 5-

хлор-2-метилизотиазолин-3-она и 2-метилизотиазолин-3-она в соотношении 3:1 и сополимер этиленоксида и пропиленоксида, которая, как оказалось, характеризуется идентичным составом, что и диспергирующий агент, такой как PLURONIC L61 или TERGITOL L61. Однако существует необходимость в получении альтернативных композиций, содержащих 5-хлор-2-метилизотиазолин-3-он и 2-метилизотиазолин-3-он.

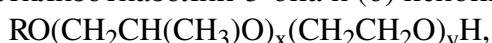
Проблема, лежащая в основе настоящего изобретения, заключается в получении альтернативных композиций, включающих 5-хлор-2-метилизотиазолин-3-он и 2-метилизотиазолин-3-он.

Краткое описание сущности настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к водной бактерицидной композиции, включающей:

(а) 0,5-5 мас. % смеси 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она и (б) 1-10 мас. % неионного ПАВ, содержащего  $C_6-C_{12}$ -алкильную группу, в среднем 3-7 молей полимеризованных звеньев пропиленоксида и в среднем 5-12 молей полимеризованных звеньев этиленоксида.

Кроме того настоящее изобретение относится к синергетической бактерицидной композиции, включающей: (а) смесь 5-хлор-2-метилизотиазолин-3-она и 2-метилизотиазолин-3-она и (б) неионный ПАВ следующей структуры:



где R означает  $C_8$ -алкильную группу, x равен 5, а у равен 6 или 9.

Кроме того настоящее изобретение относится к водной бактерицидной композиции, включающей: (а) смесь 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она и (б) неионный ПАВ, содержащий  $C_6-C_{12}$ -алкильную группу, в среднем 3-7 молей полимеризованных звеньев пропиленоксида и в среднем 5-12 молей полимеризованных звеньев этиленоксида, причем массовое соотношение указанного неионного ПАВ и указанной смеси составляет от 10:1 до 0,8:1.

Подробное описание настоящего изобретения

«МИТ» означает 2-метил-4-изотиазолин-3-он, также названный 2-метил-3-изотиазолон. «СМИТ» означает 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он, также названный 5-хлор-2-метил-3-изотиазолон. Предпочтительно массовое соотношение СМИТ и МИТ составляет не более 2:1, предпочтительно по крайней мере 2,5:1. Предпочтительно массовое соотношение СМИТ и МИТ составляет не более 4:1, предпочтительно не более 3,5:1. В одном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения соотношение СМИТ и МИТ составляет приблизительно 3:1.

Если в контексте ясно не указано иное, использованные в данном контексте следующие термины имеют указанные значения. Термин «бактерицидный агент» относится к соединению, способному подавлять или контролировать рост микроорганизмов в очаге, при этом бактерицидные агенты включают антибактериальные агенты, противогрибковые агенты и альгициды. Термин «микроорганизм» включает, например, грибы (такие как дрожжи и плесень), бактерии и водоросли. Использованный в данном контексте термин «твёрдая» композиция означает композицию, которая находится в твердом состоянии при 25°C. Во всем описании были использованы следующие сокращения: мас. част./млн (массовые части на миллион), мл (миллилитр). Если не указано иное, величины температуры представлены в градусах Цельсия (°C),

проценты означают массовые проценты (мас. %), а количества и соотношения представлены в расчете на активные ингредиенты, то есть изотиазолоны и ПАВ. Процентное количество воды в твердых композициях включает всю воду, присутствующую в любых гидратированных солях и любую свободную воду, которая

5 может присутствовать.

Предпочтительно водная композиция содержит по крайней мере 0,8 мас. % смеси СМИТ и МИТ (в расчете на активные ингредиенты), предпочтительно по крайней мере 1 мас. %, предпочтительно по крайней мере 1,1 мас. % указанной смеси, предпочтительно по крайней мере 1,2 мас. %, предпочтительно по крайней мере 1,3 мас. %,

10 предпочтительно композиция содержит не более 4,5% мас. % указанной смеси, предпочтительно не более 4 мас. %, предпочтительно не более 3,5 мас. %, предпочтительно не более 3 мас. %, предпочтительно не более 2,5 мас. %, предпочтительно не более 2 мас. %, предпочтительно не более 1,8 мас. %.

Предпочтительно массовое соотношение неионного ПАВ и смеси СМИТ/МИТ, в расчете 15 на массу активных ингредиентов СМИТ/МИТ и ПАВ, составляет не более 10:1, предпочтительно не более 8:1, предпочтительно не более 6:1, предпочтительно не более 5:1, предпочтительно не более 4:1, предпочтительно не более 3,5:1, предпочтительно не более 3:1, предпочтительно по крайней мере 0,8:1, предпочтительно по крайней мере 1:1, предпочтительно по крайней мере 1,5:1, предпочтительно по крайней мере 2:1, 20 предпочтительно по крайней мере 2,5:1, предпочтительно по крайней мере 3:1.

Термин «нитрат металла» означает нитратную соль щелочного металла, щелочно-земельного металла или аммония. Предпочтительно металл означает литий, натрий, калий, магний, кальций, аммиак или их комбинации, более предпочтительно натрий, калий, магний или их комбинации. Магний является наиболее предпочтительным.

25 Водная композиция содержит предпочтительно по крайней мере 70 мас. % воды, предпочтительно по крайней мере 80 мас. %, предпочтительно по крайней мере 85 мас. %, предпочтительно по крайней мере 87 мас. %, предпочтительно по крайней мере 89 мас. %. Предпочтительно водная композиция содержит по крайней мере 0,5 мас. % нитрата металла, по крайней мере 1 мас. %, по крайней мере 1,2 мас. %, по крайней мере 1,4 мас. %, по крайней мере 2 мас. %, предпочтительно не более 8 мас. %, предпочтительно не более 6 мас. %, предпочтительно не более 5 мас. %, предпочтительно не более 4 мас. %, предпочтительно не более 3 мас. %. Предпочтительно водная 30 композиция содержит по крайней мере 0,005 мас. % йодноватой кислоты, бромноватой кислоты, йодной кислоты или их солей, предпочтительно по крайней мере 0,01 мас. %, предпочтительно по крайней мере 0,015 мас. %, предпочтительно по крайней мере 0,02 мас. %, предпочтительно не более 0,2 мас. %, предпочтительно не более 0,1 мас. %, предпочтительно не более 0,05 мас. %. Предпочтительно можно использовать 35 стабилизатор на основе меди, включая нитрат меди, сульфат меди или другие соли, предпочтительно содержащиеся в количестве по крайней мере 0,05 мас. %, предпочтительно по крайней мере 0,10%, предпочтительно по крайней мере 0,15%, предпочтительно по крайней мере 0,20%, предпочтительно не более 2,0%, предпочтительно не более 1,0%, предпочтительно не более 5,0%. Кроме того, можно использовать стабилизаторы на основе пероксида или бронопола. Обычно водную 40 композицию разбавляют для промышленного применения до содержания от 1,0 до 15 част./млн СМИТ/МИТ (в расчете на активные ингредиенты).

Неионный ПАВ характеризуется следующей структурой:



где R означает C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-алкильную группу, x равен от 3 до 7, а у равен от 5 до 9.

Индексы х и у означают средние значения в расчете на смесь соединений. Предпочтительно R означает C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-алкильную группу, предпочтительно C<sub>7</sub>-C<sub>9</sub>-алкильную группу, предпочтительно C<sub>8</sub>-алкильную группу, предпочтительно 2-этилгексильную группу. Предпочтительно R означает разветвленную алкильную группу. Предпочтительно x равен 4-6, предпочтительно 5. Предпочтительно у равен 5-10, предпочтительно 6-10, предпочтительно 6-9, предпочтительно 5-7 или 8-10, предпочтительно 7-10, предпочтительно 8-10, предпочтительно приблизительно 9. Предпочтительно водная композиция включает по крайней мере 2 мас. % указанного неионного ПАВ (в расчете на активные ингредиенты), предпочтительно по крайней мере 3 мас. %, предпочтительно по крайней мере 3,5 мас. %, предпочтительно по крайней мере 4 мас. %, предпочтительно не более 9 мас. %, предпочтительно не более 8 мас. %, предпочтительно не более 7 мас. %, предпочтительно не более 6,5 мас. %, предпочтительно не более 6 мас. %.

Водная композиция может содержать следы органических растворителей, оставшихся после получения изотиазолоновых биоцидов. Предпочтительно общий уровень органических растворителей в водной композиции составляет не более 1%, предпочтительно не более 0,5%, предпочтительно не более 0,3%, предпочтительно не более 0,2%, предпочтительно не более 0,1%. Типичные органические растворители, которые могут присутствовать, включают, например, этанол, этилацетат, уксусную кислоту, бутилацетат, бутанол и хлористый метилен.

Предпочтительно водная композиция в основном не содержит других ПАВ, то есть композиция содержит менее 1 мас. % ПАВ, отличающихся от указанного неионного ПАВ, предпочтительно менее 0,5 мас. %, предпочтительно менее 0,3 мас. %, предпочтительно менее 0,2 мас. %, предпочтительно менее 0,1 мас. %, предпочтительно менее 0,05 мас. %.

Предпочтительно синергетическая бактерицидная композиция содержит:

- (а) смесь 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она и
- (б) неионный ПАВ, содержащий C<sub>8</sub> алкильную группу, в среднем 5 полимеризованных

звеньев пропиленоксида и в среднем 9 молей полимеризованных звеньев этиленоксида. Предпочтительно массовое соотношение указанной смеси и указанного неионного ПАВ составляет от 1:2 до 1:50. Предпочтительно синергетическая бактерицидная композиция содержит:

- (а) смесь 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она и
- (б) неионный ПАВ, содержащий C<sub>8</sub>-алкильную группу, в среднем 5 полимеризованных звеньев пропиленоксида и в среднем 6 молей полимеризованных звеньев этиленоксида. Предпочтительно массовое соотношение указанной смеси и указанного неионного ПАВ составляет от 1:0,5 до 1:10.

Предпочтительно неионный ПАВ характеризуется следующей структурой:



где R означает C<sub>8</sub>-алкильную группу, x равен 5, а у равен 6 или 9. Предпочтительно C<sub>8</sub>-алкильная группа означает 2-этилгексил. Смесь СМИТ/МИТ (массовое соотношение 3:1) проявляет синергизм с неионным ПАВ указанной выше формулы, где R означает 2-этилгексил, x равен 5, а у равен 9, в отношении микроорганизмов *P. aeruginosa*, *E. cloacae* и *K. pneumoniae*, причем эта комбинация является особенно эффективной при подавлении роста *E. cloacae*. Смесь СМИТ/МИТ (массовое соотношение 3:1) проявляет синергизм с неионным ПАВ указанный выше формулы, где R означает 2-этилгексил, x равен 5, а у равен 6, в отношении микроорганизмов *E. cloacae* и *K. pneumoniae*.

Предпочтительно синергетическая бактерицидная композиция в основном не содержит другие изотиазолоны, то есть она содержит менее 1 мас. % изотиазолонов, отличающихся от CMIT/MIT, в расчете на общую массу активных ингредиентов, предпочтительно менее 0,5 мас. %, предпочтительно менее 0,2 мас. %, предпочтительно менее 0,1 мас. %.

5 Предпочтительно синергетическая бактерицидная композиция в основном не содержит другие бактерициды, то есть она содержит менее 1 мас. % бактерицидов, отличающихся от CMIT/MIT, в расчете на общую массу активных ингредиентов, предпочтительно менее 0,5 мас. %, предпочтительно менее 0,2 мас. %, предпочтительно менее 0,1 мас. %.

Композиции по настоящему изобретению могут содержать другие ингредиенты,

10 например, противовспенивающие агенты и эмульгаторы. Бактерицидные композиции по настоящему изобретению можно использовать для подавления роста микроорганизмов или более высоких форм водной флоры и фауны (такие как простейшие, беспозвоночные, мшанки, панцирножгутиковые, ракообразные, моллюски и т.п.), при введении антибактериально эффективного количества композиции на очаг,

15 внутри очаг или в участок очага, подвергающегося атаке микроорганизмов. Пригодные очаги включают, например, следующие объекты: технологическая вода для промышленных предприятий, системы для нанесения покрытий электроосаждением, градирни, жидкостные воздухоочистители, газопромывные колонны, минеральные шламы, обработка сточных вод, декоративные фонтаны, фильтрация в системе

20 обратного осмоса, ультрафильтрация, балластная вода, испарительные конденсаторы, теплообменники, технологические жидкости и добавки для производства целлюлозы и бумаги, крахмал, пластмассы, эмульсии, дисперсии, краски, латексы, покрытия, такие как лаки, строительная продукция, такая как мастики, уплотняющая паста и герметики, строительные клеи, такие как клеи на основе керамики, клеи для основы ковров, клеи

25 для слоистых пластиков, строительные и потребительские клеи, фотохимические реагенты, типографские краски, продукты бытовой химии, такие как чистящие средства для ванной и кухни, косметика, предметы личной гигиены, шампуни, мыла, детергенты, промышленные чистящие средства, мастики для полов, стоки банно-прачечного хозяйства, рабочие жидкости для металлообработки, смазывающие вещества для

30 конвейеров, гидравлическая вода, кожа и продукты из кожи, текстиль, текстильные изделия, древесина и древесные изделия, такие как фанера, макулатурный картон, ДСП, kleenый брус, ДСП с ориентированным расположением стружки и древесно-волокнистая плита, сточные воды нефтеперерабатывающих заводов, топливо, нефтепромысловые флюиды, такие как закачиваемый флюид, жидкость для гидроразрыва пласта и буровые

35 флюиды, консервация сельскохозяйственных добавок, консервация детергентов, медицинские изделия, консервация диагностических реагентов, консервация пищевых продуктов, такая как пищевые пленки и оберточная бумага, пищевые продукты, напитки и промышленные автоклавы для пастеризации, унитазы, рекреационная вода, бассейны и спа.

40 Конкретное количество бактерицидных композиций по настоящему изобретению, необходимое для подавления или контроля роста микроорганизмов, может изменяться в зависимости от определенной области применения. Обычно количество композиции по настоящему изобретению является достаточным для контроля роста

45 микроорганизмов, если в композиции содержится от 0,1 до 1000 част./млн активных ингредиентов. Предпочтительно, чтобы активные ингредиенты композиции (то есть смесь неионного ПАВ и изотиазолона) присутствовали в очаге в количестве по крайней мере 1 част./млн. предпочтительно по крайней мере 5 част./млн, предпочтительно по крайней мере 10 част./млн, предпочтительно по крайней мере 20 част./млн.

Предпочтительно, чтобы активные ингредиенты композиции присутствовали в очаге в количестве не более 700 част./млн, предпочтительно не более 400 част./млн, предпочтительно не более 200 част./млн, предпочтительно не более 100 част./млн, предпочтительно не более 50 част./млн, предпочтительно не более 30 част./млн,

5 предпочтительно не более 20 част./млн.

В промышленных и коммерческих системах охлаждения воды предпочтительно общая концентрация активных ингредиентов составляет по крайней мере 1 част./млн, предпочтительно по крайней мере 2 част./млн, предпочтительно по крайней мере 3 част./млн, предпочтительно не более 25 част./млн, предпочтительно не более 20 част./

10 млн, предпочтительно не более 15 част./млн, предпочтительно не более 12 част./млн, предпочтительно не более 10 част./млн, предпочтительно не более 8 част./млн, предпочтительно не более 6 част./млн. Согласно способу по настоящему изобретению промышленные и коммерческие системы охлаждения воды обрабатывают при добавлении, в виде смеси или в отдельности, смеси неионного ПАВ и изотиазолона в 15 количествах, которые обеспечивают указанные выше концентрации.

Примеры

Пример 1

Оценка совместимости продуктов PLURONIC в качестве ПАВ с биоцидом CMIT/MIT

Ранее было установлено, что ПАВ, включающие несколько продуктов PLURONIC,

20 повышают эффективность низких уровней биоцидов CMIT/MIT (массовое соотношение 3:1) при контроле биообразования поверхности бактериями. В ходе всех испытаний использовали смеси CMIT/MIT, не содержащие стабилизаторов на основе меди или иодата. Комбинации биоцида и ПАВ в массовом процентном соотношении 1,5:5 проявляют эффективность при контроле биообразования различных матриц различными

25 организмами в различные периоды времени. Продукты PLURONIC и TERGITOL серии L представляют собой сополимеры пропиленоксида (ПО) и этиленоксида (ЭО), полученные при обработке полипропиленгликоля этиленоксидом. Первая цифра в цифровом обозначении, умноженная на 300, указывает на молекулярную массу полимеризованного ПО-ядра, а вторая цифра, умноженная на 10, обозначает процентное

30 содержание полимеризованного ЭО в ПАВ. Например, PLURONIC L61 содержит ПО-ядро с молекулярной массой 1800 и в основном 10% ЭО.

Однако использование двухкомпонентной обработки (в двух барабанах) для контроля микроорганизмов является нежелательным, так как для этого требуются дополнительные насосы, датчики времени, шланги, электроэнергия, оборудование,

35 пространство и техническое обслуживание. Наиболее желательной дозирующей системой является однопродуктовая (однобарабанная) стратегия. Однако чтобы обеспечивать технически реализуемый вариант, комбинированные составы должны проявлять чрезвычайно высокие совместимость и стабильность.

Стабильные составы, содержащие комбинации биоцидов и ПАВ, должны

40 соответствовать минимальным критериям хорошей физической и химической совместимости, прежде всего в процессе хранения при повышенной температуре. Важным признаком комбинированного продукта является также способность к пенообразованию от минимального до полного его отсутствия.

В данном исследовании в качестве ПАВ использовали несколько продуктов

45 PLURONIC (фирмы BASF) в количестве 1% и 5% в составе комбинации с биоцидом CMIT/MIT. Физическую стабильность смеси биоцида с ПАВ исследовали при 40°C в течение одной недели. В этом примере конечная концентрация биоцида в составе составляла 1,5%, и композицию стабилизировали при добавлении 0,15% нитрата меди.

Полученные результаты показали, что составы, содержащие продукт PLURONIC L62 (в концентрации 1 или 5%) и CMIT/MIT, характеризовались разделением фаз и следовательно, являлись непригодными для применения. Разделение фаз также наблюдалось в составах CMIT/MIT, включающих продукт PLURONIC L43 при соотношении 1:1, но не наблюдалось при соотношении 1:5. Однако для комбинации продукта PLURONIC L44 со смесью CMIT/MIT разделение фаз не наблюдалось. На основании полученных результатов анализа было установлено, что составы CMIT/MIT в смеси с продуктом PLURONIC L44 являются пригодными для дальнейших испытаний на совместимость.

	<b>Биоцид</b>	<b>ПАВ</b>	<b>Физическая стабильность, наблюдение через одну неделю при 40°C</b>	<b>Пригодность для комбинированного состава</b>
10	1,5% CMIT/MIT	Отсутствует	Разделение фаз отсутствует	Не определяли
15	1,5% CMIT/MIT	1% PLURONIC L62 LF	Разделение фаз	Нет
20	1,5% CMIT/MIT	5% PLURONIC L62 LF	Разделение фаз	Нет
25	1,5% CMIT/MIT	1% PLURONIC L43	Разделение фаз	Нет
	1,5% CMIT/MIT	5% PLURONIC L43	Разделение фаз отсутствует	Да
	1,5% CMIT/MIT	1% PLURONIC L44	Разделение фаз отсутствует	Да
	1,5% CMIT/MIT	5% PLURONIC L44	Разделение фаз отсутствует	Да

## Пример 2

Совместимость смеси биоцида CMIT/MIT с продуктами PLURONIC в качестве ПАВ

В этих испытаниях на стабильность/совместимость в качестве ПАВ оценивали продукты PLURONIC L44 и L44 INH (фирмы BASF) в концентрации 5% в комбинации с 1,5% биоцида CMIT/MIT, который был предварительно стабилизирован или был стабилизирован после смешивания при добавлении 0,01% иодата калия. Физическую/химическую стабильность смеси биоцида с ПАВ оценивали после хранения при 25°C в течение 4 недель и при 55°C в течение 4-8 недель. Пригодные составы должны характеризоваться сохранением каждого биоцидного компонента на уровне >90% и отсутствием помутнения или осадка после хранения в течение 4 недель при 55°C. Незначительное окрашивание являлось нежелательным, но приемлемым, если не наблюдалось образование твердых веществ (осадка) или не оказывало влияние на концентрацию, необходимую для дозирования биоцида. Неприемлемые образцы выделены жирным шрифтом и подчеркиванием.

Результаты данных испытаний свидетельствуют о том, что биоцид CMIT/MIT является несовместимым ни с продуктом PLURONIC L44 ни с продуктом PLURONIC L44 INH в качестве ПАВ при повышенной температуре 55°C. Более значительная деградация биоцида CMIT наблюдалась в образцах 1 и 2 (предварительно стабилизованных) по сравнению с образцами 2 и 3 (стабилизованных после смешивания). Все образцы, выдержанные в условиях термического старения, рассматриваются как непригодные из-за потери биоцида (остаточное содержание <99%), образования осадка и помутнения.

Следовательно, комбинации CMIT/MIT с продуктом PLURONIC L44 или L44 INH являются не стабильными или не совместимыми в различных условиях термического старения или в процессе их получения.

	Образец	Мас.%	Нд *	°C	% MIT	% CMIT	% сум.	% MIT Ост. кол-во	% CMIT Ост. кол-во	Внешний вид
5	CMIT/MIT Предв. стабилизир.	10,71%	0	25	0,38	1,12	1,50	100%	100%	Прозрач., бесцв.
10	PLURONIC L44 INH	5,00%	4	25	0,39	1,14	1,53	103%	102%	Прозрач., бесцв.
			4	55	0,33	0,01	0,34	<u>87%</u>	<u>1%</u>	<u>Мутный, желтый, осадок</u>
15			8	55	0,24	0,01	0,25	<u>63%</u>	<u>1%</u>	<u>Мутный, желтый, осадок</u>
20	CMIT/MIT Предв. стабилизир.	10,71%	0	25	0,38	1,12	1,50	100%	100%	Прозрач., бесцв.
	PLURONIC L44	5,00%	4	25	0,39	1,13	1,52	103%	101%	Прозрач., бесцв.
			4	55	0,30	0,06	0,36	<u>79%</u>	<u>5%</u>	<u>Мутный, желтый, осадок</u>
25			8	55	0,24	0,05	0,29	<u>63%</u>	<u>4%</u>	<u>Мутный, желтый, осадок</u>
30	CMIT/MIT Стабилизир. после смеш.	10,71 %	0	25	0,36	1,06	1,4	100%	100%	Прозрач., бесцв.
	PLURONIC L44 INH	5,00%	4	25	0,36	1,07	1,43	100%	101%	Прозрач., бесцв.
			4	55	0,32	0,66	0,98	<u>89%</u>	<u>62%</u>	<u>Мутный, желтый, осадок</u>
35			8	55	0,28	0,26	0,54	<u>78%</u>	<u>25%</u>	<u>Мутный, желтый, осадок</u>
40	CMIT/MIT Стабилизир. после смеш.	10,71 %	0	25	0,38	1,11	1,49	100%	100%	Прозрач., бесцв.
	PLURONIC L44	5,00%	4	25	0,38	1,11	1,49	100%	100%	Прозрач., бесцв.
			4	55	0,35	0,88	1,23	<u>92%</u>	<u>79%</u>	<u>Мутный, желтый, осадок</u>
			8	55	0,33	0,73	1,03	<u>87%</u>	<u>66%</u>	<u>Мутный, желтый, осадок</u>

\* Нд означает недели

45 Пример 3

Химическая стабильность составов CMIT/MIT, содержащих ПАВ

Дополнительные испытания проводили для сравнения химической стабильности активных ингредиентов CMIT/MIT в комбинации с различными ПАВ при массовом

соотношении 1,5:5 в условиях продолжительного термического старения.

В этих испытаниях оценивали несколько дополнительных ПАВ в концентрации 5% в комбинации с 1,5% биоцида СМИТ/МИТ, который стабилизировали предварительно или после смешивания при добавлении 0,01% иодата калия. Химическую стабильность бактерицидных составов с ПАВ оценивали перед началом испытаний при 25°C и после термостарения в течение 4 и 8 недель при 55°C. Пригодные составы характеризовались остаточным содержанием каждого биоцидного компонента на уровне >95% и отсутствием помутнения или образования осадка через 4 недели хранения при 55°C. Незначительное изменение окрашивания являлось нежелательным, но допустимым, так как при этом не образовывались твердые вещества (осадок) или не наблюдалось влияние на концентрацию биоцида, необходимую для дозирования. Образцы, которые оказались неприемлемыми, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

Комбинации СМИТ/МИТ с продуктом TERGITOL L64 и ПАВ А (2-этилгексил, содержащий в среднем 5 звеньев ПО и в среднем 9 звеньев ЭО) характеризуются чрезвычайно высокой физической и химической стабильностью, то есть оба изотиазолоновых биоцида проявляли активность после выдерживания при 55°C в течение 4-8 недель. Только для одного образца наблюдалась значительная потеря СМИТ через 8 недель. Для комбинации СМИТ/МИТ+ПАВ А наблюдалось незначительное окрашивание, но не наблюдалось помутнение или образование осадка. Следовательно, оба этих ПАВ являются перспективными агентами для получения стабильных составов, содержащих биоцид СМИТ/МИТ.

Образец	Мас. %	Нд*	°C	% МИТ	% СМИТ	Сум. АА**	% МИТ Ост. кол-во	% СМИТ Ост. кол-во	Внешний вид
СМИТ/МИТ Предв. стабилизир.	10,71	0	25	0,39	1,16	1,55	100%	100%	Прозрач., бесцветный

30

35

40

45

	Образец	Мас. %	Нд*	°C	% СМИТ	% СМИТ	Сум. АА**	% МИТ Ост. кол-во	% СМИТ Ост. кол-во	Внешний вид
5	TERGITOL L-64	5,00	4	55	0,38	1,15	1,54	98%	99%	Прозрач., бесцветный
			8	55	0,39	1,07	1,46	99%	<u>92%</u>	Прозрач., бесцветный
10	СМИТ/МИТ Стабилизир. после смеш.	10,71	0	25	0,38	1,14	1,52	100%	100%	Прозрач., бесцветный
	TERGITOL L-64	5,00	4	55	0,37	1,09	1,47	98%	96%	Прозрач., бесцветный
15			8	55	0,38	1,10	1,49	101%	97%	Прозрач., бесцветный
	СМИТ/МИТ Предв. стабилизир.	10,71	0	25	0,38	1,15	1,53	100%	100%	Прозрач., бесцветный
20	ПАВ А	5,00	4	55	0,40	1,18	1,58	105%	103%	Прозрач., св.-желтый
			8	55	0,41	1,19	1,59	107%	103%	Прозрач., св.-желтый
25	СМИТ/МИТ Стабилизир. после смеш.	10,71	0	25	0,38	1,12	1,50	100%	100%	Прозрач., бесцветный
	ПАВ А	5,00	4	55	0,37	1,11	1,48	97%	99%	Прозрач., св.-желтый
			8	55	0,39	1,11	1,50	102%	99%	Прозрач., св.-желтый

\* Нд - недели

\*\* Сум.АА –суммарное количество активных агентов

#### Пример 4

Оценка совместимости составов СМИТ/МИТ в комбинации с ПАВ А, В и С и с продуктами TERGITOL

Испытания на совместимость проводили для оценки совместимости составов СМИТ/МИТ в комбинации с различными ПАВ, которые повышают эффективность биоцида СМИТ/МИТ при контроле микробных биопленок. Оценивали физические свойства комбинированных составов, содержащих 1,5% СМИТ/МИТ и 5% ПАВ. Биоцид СМИТ/МИТ получали при разбавлении 14%-ного продукта СМИТ/МИТ с последующей стабилизацией (образец, стабилизированный после смешивания) с использованием 0,01% иодата калия (если не указано, что его не добавляли).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что смесь СМИТ/МИТ после стабилизации иодатом калия является физически прозрачной, бесцветной и не образует осадок. Отсутствие стабилизатора в составе 1,5%-ного СМИТ/МИТ вызывает изменение окрашивания и образование осадка при 40°C и при 55°C.

ПАВ С (2-этилгексил, содержащий в среднем 5 звеньев ПО и в среднем 3 звена ЭО) и продукты TERGITOL L-81 (содержащие и не содержащие СМИТ/МИТ) являлись физически непригодными (помутнение или желирование) перед началом испытаний (время 0) и их в дальнейшем не испытывали.

ПАВ В (2-этилгексил, содержащий в среднем 5 звеньев ПО и в среднем 6 звена ЭО) и продукты TERGITOL L-62 характеризовались различными свойствами в комбинации

с СМИТ/МИТ и были признаны непригодными из-за помутнения, окрашивания или обильного пенообразования.

ПАВ А и TERGITOL L-64 проявляли отличные физические свойства и совместимость в количестве 5% в комбинации с 1,5%-ным биоцидом СМИТ/МИТ. Эти составы обычно 5 были прозрачными, для них не наблюдалось помутнение или окрашивание и наблюдалось пенообразование от минимального до его полного отсутствия после кратковременного выдерживания в условиях термостарения при 55°C.

	ПАВ	СМИТ/МИТ	Время 0	4 сут при 25°C	4 сут при 40°C	4 сут при 55°C
10	Нет	1,5%	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
		1,5% Стабил-р отсут.	Прозрачный	Прозрачный	Желтый, осадок	Желтый, осадок
15	5% ПАВ С	Нет	Мутный	-	-	-
		1,5%	Мутный	-	-	-
20	5% ПАВ В	Нет	Прозрачный	Прозрачный, обильная пена	Мутный, белый	Мутный, белый
		1,5%	Прозрачный	Прозрачный, обильная пена	Прозрачный, слабая пена	Мутный, белый, слабая пена
25	5% ПАВ А	Нет	Прозрачный	Прозрачный, Сред. пена	Прозрачный, слабая пена	Прозрачный, слабая пена
		1,5%	Прозрачный	Прозрачный, Сред. пена	Прозрачный	Прозрачный
30	5% TERGITOL L-62	Нет	Прозрачный	Прозрачный, слабая пена	Прозрачный	Мутный
		1,5%	Прозрачный	Прозрачный, слабая пена	Прозрачный	Мутный, незнач. пожелтение
35	5% TERGITOL L-64	Нет	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
		1,5%	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
35	5% TERGITOL L-81	Нет	Мутн., желир., разд.фаз	-	-	-
		1,5%	Мутн., желир., разд.фаз	-	-	-

### Пример 5

Совместимость и стабильность составов СМИТ/МИТ в комбинации с ПАВ А и с продуктами TERGITOL L64 после продолжительного термостарения

Дополнительные испытания на стабильность составов СМИТ/МИТ, содержащих ПАВ В, ПАВ А и продукты TERGITOL L-64, проводили для оценки их продолжительной физической и химической совместимости. Испытания проводили при 25°C, 40°C и 55°C. Результаты свидетельствовали о том, что все составы, за исключением смеси TERGITOL L-64 + СМИТ/МИТ после хранения при 55°C, проявляли исключительную химическую стабильность (остаточная концентрация >95% по сравнению с исходной) и отличный 40 физический внешний вид (прозрачный состав без осадка или помутнения). Для составов, 45 содержащих ПАВ В в комбинации с СМИТ/МИТ, наблюдались слабое пенообразование и незначительное окрашивание.

Для ПАВ А через 3 месяца термостарения при 55°C наблюдались незначительные

потери CMIT (остаточное количество 94%). Для ПАВ В при 55°C наблюдалась умеренные потери CMIT (остаточное количество 89%) и пожелтение. Все другие исследованные комбинации проявляли чрезвычайно высокую физическую и химическую совместимость.

5 Через 6 месяцев все образцы, которые подвергали термостарению при комнатной температуре, являлись чрезвычайно стабильными и физически совместимыми. Как и ожидалось, для некоторых составов были отмечены дополнительные потери биоцида при повышенных температурах, однако приемлемым являлось хранение при 40°C и 55°C в течение 6 месяцев.

10 Стабильность и совместимость биоцидов при хранении в течение 2 месяцев

Образец	% CMIT	% MIT	Сум. АА*, %	% CMIT Ост. кол-во	% MIT Ост. кол-во	Внешний вид
ПАВ А + CMIT/MIT 25°C	1,134	0,375	1,51	101%	101%	Прозрачный
ПАВ А + CMIT/MIT 40°C	1,140	0,374	1,51	101%	101%	Прозрачный
ПАВ А + CMIT/MIT 55°C	1,075	0,373	1,45	95%	101%	Прозрачный

Образец	% CMIT	% MIT	Сум. АА*, %	% CMIT Ост. кол-во	% MIT Ост. кол-во	Внешний вид
TERGITOL L-64 + CMIT/MIT 25°C	1,132	0,374	1,51	101%	102%	Прозрачный
TERGITOL L-64 + CMIT/MIT 40°C	1,123	0,372	1,49	101%	102%	Прозрачный
TERGITOL L-64 + CMIT/MIT 55°C	0,174	0,251	0,43	<u>16%</u>	<u>69%</u>	Желтый осадок
CMIT/MIT 25°C	1,217	0,403	1,62	105%	105%	Прозрачный
CMIT/MIT 40°C	1,186	0,392	1,58	102%	102%	Прозрачный
CMIT/MIT 55°C	1,185	0,392	1,58	102%	102%	Прозрачный
ПАВ В + CMIT/MIT 25°C	1,131	0,374	1,51	100%	100%	Прозрачный, пена
ПАВ В + CMIT/MIT 40°C	1,140	0,376	1,52	101%	100%	Св.-желтый, пена
ПАВ В + CMIT/MIT 55°C	1,081	0,376	1,46	95%	100%	Прозрачный, пена

\* - Сум.АА –суммарное количество активных агентов

35 ПАВ А + исходные концентрации CMIT/MIT = 1,133% CMIT + 0,375% MIT

ПАВ А + исходные концентрации CMIT/MIT = 1,127% CMIT + 0,371% MIT

TERGITOL L-64 + исходные концентрации CMIT/MIT = 1,116% CMIT + 0,365% MIT

Исходная концентрация CMIT/MIT = 1,163% CMIT + 0,384% MIT

40 Стабильность и совместимость биоцидов при хранении в течение 3 месяцев

	Образец	% CMIT	% MIT	Сум. АА*, %	% CMIT Ост. кол-во	% MIT Ост. кол-во	Внешний вид
5	ПАВ А + CMIT/MIT 25°C	1,137	0,378	1,51	101%	102%	Прозр.
	ПАВ. А + CMIT/MIT 40°C	1,113	0,367	1,48	99%	99%	Прозр.
	ПАВ А + CMIT/MIT 55°C	1,057	0,361	1,42	94%	97%	Прозр.
	TERGITOL L-64 + CMIT/MIT 25°C	1,121	0,370	1,49	100%	101%	Прозр.
	TERGITOL L-64 + CMIT/MIT 40°C	1,091	0,364	1,46	98%	100%	Прозр.
10	TERGITOL L-64 + CMIT/MIT 55°C	H/o**	H/o	H/o	H/o	H/o	H/o
	CMIT/MIT 25°C	1,212	0,401	1,61	104%	104%	Прозр.
	CMIT/MIT 40°C	1,184	0,391	1,58	102%	102%	Прозр.
	CMIT/MIT 55°C	1,212	0,414	1,63	104%	108%	Прозр., св.- желтый
15	ПАВ В + CMIT/MIT 25°C	1,126	0,372	1,50	99%	99%	Прозр.
	ПАВ В + CMIT/MIT 40°C	1,131	0,374	1,50	100%	100%	Св.- желтый, пена
	ПАВ В + CMIT/MIT 55°C	1,008	0,399	1,41	89%	106%	Желтый
20	* - Сум.АА –суммарное количество активных агентов						

\* - Сум.АА –суммарное количество активных агентов

\*\* - н/о не определяли

Стабильность и совместимость биоцидов при хранении в течение 6 месяцев

	Образец	% CMIT	% MIT	Сум. АА*, %	% CMIT Ост. кол-во	% MIT Ост. кол-во	Внешний вид
25	ПАВ А + CMIT/MIT 25°C	1,152	0,382	1,53	102%	103%	Прозр.
	ПАВ А + CMIT/MIT 40°C	1,085	0,360	1,44	96%	97%	Прозр.
	ПАВ А + CMIT/MIT 55°C	0,922	0,357	1,28	82%	96%	Св.-желтый
	TERGITOL L-64 + CMIT/MIT 25°C	1,134	0,375	1,51	102%	103%	Прозр.
	TERGITOL L-64 + CMIT/MIT 40°C	0,974	0,365	1,34	87%	100%	Прозр.
30	TERGITOL L-64 + CMIT/MIT 55°C	H/o**	H/o	H/o	H/o	H/o	H/o
	CMIT/MIT 25°C	1,239	0,414	1,65	107%	108%	Прозр.
	CMIT/MIT 40°C	1,226	0,394	1,62	105%	103%	Прозр.
	CMIT/MIT 55°C	1,235	0,442	1,68	106%	115%	Прозр.
35	ПАВ В + CMIT/MIT 25°C	1,147	0,378	1,53	101%	101%	Прозр., пена
	ПАВ В + CMIT/MIT 40°C	1,105	0,369	1,47	98%	99%	Св.-желтый, пена
	ПАВ В + CMIT/MIT 55°C	H/o	H/o	H/o	H/o	H/o	H/o
40	* - Сум.АА –суммарное количество активных агентов						

\* - Сум.АА –суммарное количество активных агентов

\*\* - н/о не определяли

45 Исследование синергизма с использованием планктонных бактерий

Определение минимальной ингибирующей концентрации высокого разрешения (HRMIC) проводили для выявления ингибирующих уровней биоцида CMIT/MIT и ПАВ в комбинации и каждого в отдельности. Определение проводили после инкубации

образцов в стандартной культуральной среде в течение 24 ч при 30°C.

#### Материалы и методы

Синергизм комбинации по настоящему изобретению оценивали при анализе в широком интервале концентраций и соотношений соединений. Измерение синергизма является известным в промышленности методом, описанным в статье Kule F.C., Eisman P.C., Sylwestrowicz H.D. и Mayer R.L., Applied Microbiology 9:538-541 (1961), с использованием соотношения, которое рассчитывают по следующей формуле:

$$Q_a/Q_A+Q_b/Q_B = \text{Индекс синергизма ("ИС")}, \text{ где}$$

$Q_A$  означает концентрацию соединения A (первый компонент) в част./млн, при использовании в отдельности, при которой достигается конечное значение (MIC или MBC соединения A),

$Q_a$  означает концентрацию соединения A в част./млн, в составе смеси, при которой достигается конечное значение,

$Q_B$  означает концентрацию соединения B (второй компонент) в част./млн, при использовании в отдельности, при которой достигается конечное значение (MIC или MBC соединения B),

$Q_b$  означает концентрацию соединения B в част./млн, в составе смеси, при которой достигается конечное значение.

Сумма  $Q_a/Q_A$  и  $Q_b/Q_B$  больше единицы указывает на антагонизм. Сумма, равная единице, указывает на аддитивный эффект, а сумма меньше единицы указывает на синергизм. Чем меньше ИС, тем больше синергизм для конкретной смеси. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) биоцида означает наименьшую концентрацию, при которой в конкретных условиях наблюдается предотвращение роста добавленных микроорганизмов.

Анализ проводили с использованием 96-луночных микротитрационных планшетов и рабочей станции Biomek 2000, а также комбинированного метода анализа MIC высокого разрешения, который позволяет анализировать множество комбинаций двух биоцидов в одном аналитическом планшете. За минимальную ингибирующую концентрацию (MIC) принимают наименьшую концентрацию биоцида, при которой не наблюдается рост бактерий (ингибирование) в среде, содержащей неорганические соли и глюкозо-дрожжевой экстракт (M9GY),

Для анализа использовали старую 24-часовую культуру *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047) или *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) в разведении 1:20. В каждую лунку микротитрационного ланшета добавляли по 20 мкл чистой суспензии культуры каждого микроорганизма при конечной плотности 106 колониеобразующих единиц (КОЕ) на мл.

Планшеты для определения MIC инкубировали при 30°C в течение 24 ч и визуально определяли наличие или отсутствие микробного роста (помутнение). Анализ проводили в двойном повторе с различными исходными концентрациями биоцидов для увеличения числа возможных комбинаций, проявляющих бактерицидную активность. За величину MIC принимали наименьшую концентрацию биоцида, при которой наблюдается подавление роста. Все полученные результаты бактерицидной активности представлены в расчете на количество активного ингредиента в част./млн.

Результаты указывают на синергизм биоцида СМИТ/МИТ с ПАВ А и ПАВ В. Величины индекса синергизма указаны в следующей таблице. ПАВ в отдельности не проявляют бактерицидную активность при концентрации 10000 част./млн.

Синергизм биоцида СМИТ/МИТ и ПАВ А наблюдался для всех трех исследованных

бактериальных штаммов. ПАВ В проявлял синергизм с биоцидом СМИТ/МИТ только в отношении штаммов *Enterobacter* и *Klebsiella*, но не в отношении штамма *Pseudomonas aeruginosa*.

Суммарные результаты анализа синергизма биоцида СМИТ/МИТ с ПАВ А или ПАВ

5 B

ПАВ	Интервал величин индекса синергизма	Синергетические соотношения (Биоцид/ПАВ)	Штаммы бактерий, для которых наблюдается синергизм
ПАВ А	от 0,50 до 0,83	от 1:50 до 1:2	<i>P. aeruginosa</i> <i>E. cloacae</i> <i>K. pneumoniae</i>
ПАВ В	от 0,50 до 0,67	от 1:10 до 1:0,5	<i>E. cloacae</i> <i>K. pneumoniae</i>

Синергизм ПАВ А с биоцидом СМИТ/МИТ

Микроорганизм	Q <sub>a</sub> част./млн СМИТ/МИТ	Q <sub>b</sub> част./млн ПАВ А	Величины индекса синергизма	Синергетические соотношения
				(СМИТ/МИТ /ПАВ А)
<i>P aeruginosa</i> Эксперимент 1	2	0	1,0	-
	1	10	0,50	1:10
	1	15	0,50	1:15
	0	>10000	1,0	-
<i>E. cloacae</i> Эксперимент 1	1	0	1,0	-
	0,8	5	0,80	1:6,3
	0,8	10	0,80	1:12,5
	0,5	15	0,50	1:30
	0,5	20	0,50	1:40
	0,5	25	0,50	1:50
	0	>10000	1,0	-
<i>K pneumoniae</i> Эксперимент 1	1	0	1,0	-
	0,8	5	0,80	1:6

30

35

40

45

	Микроорганизм	Q <sub>a</sub> част./млн СМИТ/МИТ	Q <sub>b</sub> част./млн ПАВ А	Величины индекса синаргизма	Синергетические соотношения (СМИТ/МИТ /ПАВ А)
5	<i>P aeruginosa</i> Эксперимент 2	0,8	10	0,80	1:13
		0,8	15	0,80	1:19
		0,8	20	0,80	1:25
		0,8	25	0,80	1:31
		0	>10000	1,0	-
10	<i>E. cloacae</i> Эксперимент 2	2	0	1,0	-
		1	4	0,50	1:4
		1	10	0,50	1:10
		0	>10000	1,0	-
15	<i>K pneumoniae</i> Эксперимент 2	0,6	0	1,0	-
		0,5	1	0,83	1:2
		0,5	2	0,83	1:4
		0,5	6	0,83	1:6
		0	>10000	1,0	-
20		1	0	1,0	-
		0,8	2	0,8	1:2,5
		0,8	4	0,8	1:5
		0	>10000	1,0	-

## Синаргизм ПАВ В с биоцидом СМИТ/МИТ

	Микроорганизм	Q <sub>a</sub> част./млн СМИТ/МИТ	Q <sub>b</sub> част./млн ПАВ В	Величины индекса синаргизма	Синергетические соотношения (СМИТ/МИТ /ПАВ В)
25	<i>P aeruginosa</i> Эксперимент 1	2	0	1,0	-
		2	>10000	1,0	Нет синаргизма
		0	>10000	1,0	-
30	<i>E. cloacae</i> Эксперимент 1	3	0	1,0	-
		2	4	0,67	1:2
		2	2	0,67	1:1
		2	1	0,67	1:0,5
		0	>10000	1,0	-
35	<i>K. pneumoniae</i> Эксперимент 1	2	0	1,0	-
		1	6	0,5	1:6
		1	8	0,5	1:8
		1	10	0,5	1:10
		0	>10000	1,0	-

## Анализ образования биопленок для комбинаций биоцида СМИТ/МИТ с ПАВ

## Материалы и методы

Модель системы биопленок использовали для оценки эффективности обработки 40 композициями биоцида СМИТ/МИТ и ПАВ (каждым в отдельности и в комбинации) по уничтожению сформированных биопленок. Система включала рост биопленок на покровном стекле для микроскопа в фосфатно-солевом буферном растворе (100 мл) в среде 1% триптиказо-соевого бульона. В качестве посевного материала для образцов биопленок использовали смесь трех бактерий (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 и *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031). После инкубации 45 в течение 24-48 ч при 30°C при встряхивании (150-200 об/мин) срезы предварительно выращенных биопленок промывали в фосфатно-солевом буферном растворе и переносили в обработанные биоцидом растворы для контактирования, содержащие синтетическую охлаждающую воду (584 мг/л  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 203 мг/л  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), 84

мг/л NaHCO<sub>3</sub>, 5 мг/л акрилатного полимера и 0,1% триптиказо-соевого бульона). После контактирования в течение определенного периода времени (4–24 ч) биопленки промывали, отскребали и число жизнеспособных бактерий определяли при считывании планшета или определении наиболее вероятного числа с использованием триптиказо-соевой среды.

Ниже представлены данные для демонстрации дополнительной эффективности биоцида CMIT/MIT в присутствии ПАВ с целью контроля бактериального обрастаия. Добавление ПАВ в отдельности не позволяет контролировать образование биопленок даже при повышенных концентрациях. Следовательно, ПАВ оказывают синергетический 10 эффект на действие биоцида CMIT/MIT при контроле бактериального обрастаия поверхностей. В основном увеличение логарифма снижения по крайней мере на 0,5 логарифма по сравнению с контролем или с другой обработкой указывает на измеримое улучшение.

Для исследований использовали биопленочный реактор CDC согласно методике, 15 описанной в ASTM E2562-07, за исключением следующих условий:

1. Вид бактерий *P. aeruginosa* заменяли на бактерии *Legionella pneumophila* ATCC BAA 74, *Legionella*-организм хозяина *Acanthamoeba polyphaga* ATCC 30461, и на неизвестные бактериальные организмы окружающей среды. Организмы окружающей среды и *Legionella* получали из клеточных супензий.

20 2. Периодическую фазу (инкубация без потока) выдерживали в течение от 24 ч до 5 сут для поддержания более медленной скорости роста *Legionella*.

3. Для имитации условий, аналогичных окружающей среде градирни, среду заменяли на синтетическую воду и использовали медленную скорость потока среды для имитации более медленной скорости роста *Legionella*.

25 4. Протокол обработки также включал добавление потока после промывки в течение 24 ч BCDMH-галогенированной водой (0,6 част./млн активного хлора), чтобы оценивать действие исследуемых биоцидов на жизнеспособные биопленки, прикрепленные к исследуемым образцам при реальном обеспечении дозировки после исходной дозировки.

5. Отбор проб изменяли за счет удаления стадии промывки перед отбором проб и 30 удаления стадий 10.3.4-10.4.2 с заменой на стадию интенсивного перемешивания на мешалке Vortex, с целью удаления биопленок из исследуемых образцов. Число *Legionella* не копировало число нанесенных бактерий.

#### Пример 6

Обработка только одним биоцидом CMIT/MIT (1,5 част./млн активного ингредиента, 35 а.и.) приводит к снижению на 2,3 log через 4 ч и на 0,7 log через 24 ч в отношении предотвращения бактериального обрастаия по сравнению с необработанным контролем. При обработке только одним ПАВ А, В и С в концентрации 15 част./на млн не наблюдается снижение бактериального обрастаия поверхностей по сравнению с необработанным контролем. При обработке всеми комбинациями CMIT/MIT и ПАВ 40 А, В или С (массовое соотношение 1:10) наблюдалось улучшенное предотвращение бактериального обрастаия биопленками по сравнению с обработкой только биоцидом CMIT/MIT. Следовательно, эти ПАВ улучшают предотвращение роста бактериальных биопленок при обработке биоцидом CMIT/MIT, который сам по себе в отдельности еще не предотвращал рост биопленок.

45

Обработка	Время обработки образца	Log роста биопленки <sup>2</sup> клетки/см <sup>2</sup>	Log снижения по сравнению с необр.контролем
<b>Необработанный контроль</b>	4 ч	6,2	0,0
	24 ч	6,8	0,0
<b>1,5 част./млн а.и. СМИТ/МИТ</b>	4 ч	4,0	2,3
	24 ч	5,1	1,7
<b>15 част./млн а.и. ПАВ С</b>	4 ч	6,4	-0,2
	24 ч	6,6	0,2
<b>15 част./млн а.и. ПАВ В</b>	4 ч	7,5	-1,3
	24 ч	6,5	0,3
<b>15 част./млн а.и. ПАВ А</b>	4 ч	6,3	-0,1
	24 ч	6,8	0,0

Обработка	Время обработки образца	Log роста биопленки <sup>2</sup> клетки/см <sup>2</sup>	Log снижения по сравнению с необр.контролем
<b>1,5 част./млн а.и. СМИТ/МИТ и 15 част./млн а.и. ПАВ С</b>	4 ч	2,8	3,4
	24 ч	4,5	2,2
<b>1,5 част./млн а.и. СМИТ/МИТ и 15 част./млн а.и. ПАВ В</b>	4 ч	3,0	3,3
	24 ч	4,4	2,4
<b>1,5 част./млн а.и. СМИТ/МИТ и 15 част./млн а.и. ПАВ А</b>	4 ч	3,6	2,6
	24 ч	4,4	2,4

### Пример 7

Обработка только одним биоцидом СМИТ/МИТ (1,5 част./млн активного ингредиента, а.и.) приводит к снижению на 1,2 log через 4 ч и на 2,2 log через 24 ч в отношении предотвращения бактериального обрастания по сравнению с необработанным контролем.

При обработке всеми комбинациями, содержащими 1,5 част./млн СМИТ/МИТ и 5 част./млн ПАВ В и А (массовое соотношение 1:3,3), наблюдалось улучшенное предотвращение бактериального обрастания биопленками по сравнению с обработкой только биоцидом СМИТ/МИТ.

В ходе этих испытаний при обработке ПАВ С в комбинации с биоцидом СМИТ/МИТ не наблюдалось улучшения предотвращения бактериального обрастания, а при обработке ПАВ А не наблюдалось жизнеспособных бактерий в образцах биопленок после обработки в течение 24 ч. Следовательно, ПАВ А и ПАВ В в комбинации с биоцидом СМИТ/МИТ улучшают предотвращение роста бактериальных биопленок.

Обработка	Время обработки образца	Log роста биопленки клетки/см <sup>2</sup>	Log снижения по сравнению с необр.контролем
5 Необработанный контроль	4 ч	6,4	0,0
	24 ч	6,9	0,0
10 1,5 част./млн а.и. CMIT/MIT	4 ч	5,2	1,2
	24 ч	4,7	2,2

Обработка	Время обработки образца	Log роста биопленки клетки/см <sup>2</sup>	Log снижения по сравнению с необр.контролем
15 1,5 част./млн а.и. CMIT/MIT + 5 част./млн а.и. ПАВ С	4 ч	4,9	1,4
	24 ч	4,5	2,4
20 1,5 част./млн а.и. CMIT/MIT + 5 част./млн а.и. ПАВ В	4 ч	3,6	2,8
	24 ч	4,0	2,9
25 1,5 част./млн а.и. CMIT/MIT + 5 част./млн а.и. ПАВ А	4 ч	3,7	2,7
	24 ч	1,8*	≥5,1

30

\*Предел обнаружения = жизнеспособные клетки не наблюдаются

#### Пример 8

Обработка только одним биоцидом CMIT/MIT (1,5 част./млн активного ингредиента, а.и.) приводит к снижению на 2,3 log через 4 ч и на 2,5 log через 24 ч в отношении предотвращения бактериального обрастания по сравнению с необработанным контролем.

При обработке комбинацией 1,5 част./млн CMIT/MIT и 5 част./млн ПАВ А и А (массовое соотношение биоцид/ПАВ 1:3,3) наблюдалось улучшенное предотвращение бактериального обрастания биопленками по сравнению с обработкой только биоцидом CMIT/MIT.

45

Обработка	Время обработки образца	Log роста биопленки клетки/см <sup>2</sup>	Log снижения по сравнению с необр.контролем
Необработанный контроль	4 ч	4,5	0,0
	24 ч	5,3	0,0
1,5 част./млн а.и. CMIT/MIT	4 ч	2,2	2,3
	24 ч	2,8	2,5
1,5 част./млн а.и. CMIT/MIT + 5 част./млн а.и. ПАВ А	4 ч	1,5	3,0
	24 ч	2,1	3,2

\* Предел обнаружения = жизнеспособные клетки не наблюдаются

#### Пример 9

Обработка только одним биоцидом CMIT/MIT (1,5 част./млн и 3 част./млн а.и.)

- приводит к снижению на 1,4 и на 2,3 log через 4 ч и на 2,5 log в течение от 4 ч до 24 ч в отношении предотвращения бактериального обрастания по сравнению с необработанным контролем. При обработке комбинацией CMIT/MIT и ПАВ А и А (массовое соотношение биоцид/ПАВ 1:3,3) наблюдалось улучшенное предотвращение бактериального обрастания биопленками по сравнению с обработкой только биоцидом CMIT/MIT в течение 24 ч. При обработке только ПАВ А в отдельности в концентрации 50 част./млн не наблюдалось предотвращение бактериального обрастания. Следовательно, этот ПАВ улучшает контроль бактериального обрастания биопленками в комбинации с биоцидом CMIT/MIT (в интервале нормальной дозировки этого биоцида), но в отдельности не оказывает такого влияния.

Обработка	Время обработки образца	Log роста биопленки клетки/см <sup>2</sup>	Log снижения по сравнению с необр.контролем
Необработанный контроль	4 ч	6,6	0,0
	24 ч	6,9	0,0
1,5 част./млн а.и. CMIT/MIT	4 ч	4,5	2,0
	24 ч	5,5	1,4
3 част./млн а.и. CMIT/MIT	4 ч	5,1	1,5
	24 ч	4,7	2,3
1,5 част./млн а.и. CMIT/MIT + 5 част./млн а.и. ПАВ А	4 ч	5,2	1,4
	24 ч	4,5	2,4
3 част./млн а.и. CMIT/MIT + 10 част./млн а.и. ПАВ А	4 ч	5,4	1,1
	24 ч	2,9	4,0
50 част./млн а.и. ПАВ А	4 ч	7,4	-0,9
	24 ч	6,8	0,2

#### Пример 10

- Эффективность обработки оценивали в биопленочном реакторе CDC в отношении смешанного образца окружающей среды, включающего бактерии Legionella, как описано в разделе Материалы и методы.

Обработка	Время обработки образца	Log роста биопленки <i>Legionella</i> клетки/см <sup>2</sup>	Log снижения роста <i>Legionella</i> по сравнению с необр.контролем
5 1.5 част./млн а.и. CMIT/MIT	0 ч	2,72	0
	24 ч	2,66	0,06
	72 ч	2,57	0,15
	96 ч	0	2,27
	7 сут	0	2,72
10 1.5 част./млн а.и. CMIT/MIT + 5 част./млн а.и. ПАВ А	0 ч	2,81	0
	24 ч	1,6	1,21
	72 ч	1,6	1,21
	96 ч	0	2,81
	7 сут	2,2	0,61

## Пример 11

Оценка низких соотношений ПАВ/(CMIT/MIT)

Готовили серии образцов, содержащих четыре различных ПАВ (TERGITOL L-61, TERGITOL L-64, ПАВ В и ПАВ А), каждый в концентрации 3% или 1,5% в расчете на массу состава. Каждый состав содержал приблизительно 11% биоцида KATHON™ CF 1400, причем конечная концентрация активного ингредиента составляла 1,5% биоцида CMIT/MIT. Остальное количество в составе составляла вода. Контрольные образцы готовили при добавлении воды вместо ПАВ. Нестабилизированный контроль содержал ПАВ KATHON™ WT и не содержал иод, который стабилизирует другие составы.

В каждом образце определяли уровень активных ингредиентов в биоциде KATHON™

CF 1400 (CMIT и MIT) в начале эксперимента (время = 0) и один раз в неделю в течение 4 недель. Общий уровень активных ингредиентов равнялся сумме концентраций CMIT и MIT. Образцы анализировали методом жидкостной хроматографии высокого разрешения (ЖХВР).

Образцы готовили и в них определяли уровни CMIT и MIT в начале эксперимента

(время 0), чтобы убедиться в корректной дозировке всех образцов. После анализа каждый образец распределяли в три флакона: один для термостарения при 25°C, другой при 40°C и третий при 55°C.

Таблица 1

Анализ активных ингредиентов в образцах, содержащих CMIT/MIT и ПАВ,

в начале эксперимента (время=0)

Образец	CMIT	MIT	Общая конц. а.и.	Соотнош. а.и.	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
CMIT/MIT (без стабилизатора)	1,137	0,376	1,51	75,2	2,3
CMIT/MIT (со стабилизатором)	1,195	0,394	1,59	75,2	2,3
CMIT/MIT + ПАВ В - 1,5%	1,150	0,379	1,53	75,2	2,3
CMIT/MIT + ПАВ В - 3,0%	1,120	0,369	1,49	75,2	2,3
CMIT/MIT + ПАВ А - 1,5%	1,151	0,379	1,53	75,2	2,3
CMIT/MIT + ПАВ А - 3,0%	1,146	0,377	1,52	75,3	2,3
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 1,5%	1,201	0,395	1,60	75,3	2,3
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 3,0%	1,190	0,392	1,58	75,2	2,3
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,144	0,376	1,52	75,3	2,3
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,146	0,378	1,52	75,2	2,3

Затем образцы анализировали один раз в неделю в течение 4 недель для оценки

стабильности после термостарения.

Таблица 2

Анализ активных ингредиентов в образцах, содержащих CMIT/MIT и ПАВ,  
после термостарения в течение одной недели

Темп. (°C)	Образец	CMIT	MIT	Общая конц. а.и.	Соотнош. а.и.	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
25	CMIT/MIT (без стабилизатора)	1,145	0,378	1,52	75,2	2,3
	CMIT/MIT (с стабилизатором)	1,204	0,399	1,60	75,1	2,4
	CMIT/MIT + ПАВ В - 1,5%	1,167	0,387	1,55	75,1	2,3
	CMIT/MIT + ПАВ В - 3,0%	1,135	0,375	1,51	75,2	2,3
	CMIT/MIT + ПАВ А - 1,5%	1,175	0,388	1,56	75,2	2,4
	CMIT/MIT + ПАВ А - 3,0%	1,184	0,392	1,58	75,1	2,4
25	CMIT/MIT + TERGITOL L-61-1,5%	Мутный				
	CMIT/MIT + TERGITOL L-61-3,0%	Мутный				
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64-1,5%	1,159	0,384	1,54	75,1	2,4
25	CMIT/MIT + TERGITOL L-64-3,0%	1,152	0,381	1,53	75,1	2,3
	CMIT/MIT (без стабилизатора)	1,092	0,376	1,47	74,4	2,3
	CMIT/MIT (с стабилизатором)	1,174	0,389	1,56	75,1	2,4
	CMIT/MIT + ПАВ В - 1,5%	1,174	0,388	1,56	75,1	2,4
	CMIT/MIT + ПАВ В - 3,0%	1,126	0,373	1,50	75,1	2,3
	CMIT/MIT + ПАВ А - 1,5%	1,202	0,399	1,60	75,1	2,4
40	CMIT/MIT + ПАВ А - 3,0%	1,151	0,380	1,53	75,2	2,4
	CMIT/MIT + TERGITOL L-61-1,5%	Мутный				

Темп. (°C)	Образец	CMIT	MIT	Общая конц. а.и.	Соотнош. а.и.	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
40	CMIT/MIT + TERGITOL L-61-3,0%	Мутный				
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64-1,5%	1,159	0,384	1,54	75,1	2,3
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64-3,0%	1,194	0,395	1,59	75,1	2,5
	CMIT/MIT (без стабилизатора)	0,928	0,373	1,30	71,3	2,3
	CMIT/MIT (с стабилизатором)	1,191	0,396	1,59	75,1	2,4
	CMIT/MIT + ПАВ В - 1,5%	Мутный				
55	CMIT/MIT + ПАВ В - 3,0%	Мутный				
	CMIT/MIT + ПАВ А - 1,5%	1,156	0,383	1,54	75,1	2,4
	CMIT/MIT + ПАВ А - 3,0%	1,238	0,411	1,65	75,1	2,5
	CMIT/MIT+TERGITOL L-61-1,5%	Мутный				
55	CMIT/MIT+TERGITOL L-61-3,0%	Мутный				
	CMIT/MIT+TERGITOL L-64-1,5%	1,181	0,392	1,57	75,1	2,4
	CMIT/MIT+TERGITOL L-64-3,0%	1,160	0,385	1,55	75,1	2,4

В образцах, содержащих TERGITOL L-64, после термостарения в течение одной недели наблюдалось помутнение. В образцах, содержащих ПАВ В, после термостарения при 55°C в течение одной недели также наблюдалось помутнение.

**Таблица 3**

**Анализ активных ингредиентов в образцах, содержащих CMIT/MIT и ПАВ, после термостарения в течение двух недель**

Темп. (°C)	Образец	CMIT	MIT	Общая конц. а.и.	Соотнош. а.и.	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
10	CMIT/MIT (без стабилизатора)	1,155	0,382	1,54	75,2	н/о
	CMIT/MIT (с стабилизатором)	1,225	0,405	1,63	75,2	н/о
	CMIT/MIT + ПАВ В - 1,5%	1,198	0,396	1,59	75,1	н/о
	CMIT/MIT + ПАВ В - 3,0%	1,186	0,392	1,58	75,2	н/о
	CMIT/MIT + ПАВ А - 1,5%	1,183	0,391	1,57	75,1	н/о
	CMIT/MIT + ПАВ А - 3,0%	1,233	0,408	1,64	75,1	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 1,5%	Мутный				
	CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 3,0%	Мутный				
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,208	0,399	1,61	75,2	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,176	0,389	1,57	75,2	н/о
20	CMIT/MIT (без стабилизатора)	1,000	0,381	1,38	72,4	н/о
	CMIT/MIT (с стабилизатором)	1,222	0,404	1,63	75,1	н/о
25	Образец	CMIT	MIT	Общая конц. а.и.	Соотнош. а.и.	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
	CMIT/MIT + ПАВ В - 1,5%	1,205	0,400	1,60	75,1	н/о
	CMIT/MIT + ПАВ В - 3,0%	1,191	0,393	1,58	75,2	н/о
	CMIT/MIT + ПАВ А - 1,5%	1,215	0,402	1,62	75,1	н/о
	CMIT/MIT + ПАВ А - 3,0%	1,182	0,390	1,57	75,2	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 1,5%	Мутный				
	CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 3,0%	Мутный				
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,173	0,388	1,56	75,1	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,242	0,410	1,65	75,2	н/о
	CMIT/MIT (без стабилизатора)	0,708	0,382	1,09	64,9	н/о
30	CMIT/MIT (с стабилизатором)	1,237	0,409	1,65	75,1	н/о
	CMIT/MIT + ПАВ В - 1,5%	Мутный				
	CMIT/MIT + ПАВ В - 3,0%	Мутный				
	CMIT/MIT + ПАВ А - 1,5%	1,243	0,413	1,66	75,1	н/о
	CMIT/MIT + ПАВ А - 3,0%	1,278	0,424	1,70	75,1	н/о
35	CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 1,5%	Мутный				
	CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 3,0%	Мутный				
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,244	0,413	1,66	75,1	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,208	0,400	1,61	75,1	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,208	0,400	1,61	75,1	н/о
40	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,208	0,400	1,61	75,1	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,208	0,400	1,61	75,1	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,208	0,400	1,61	75,1	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,208	0,400	1,61	75,1	н/о
	CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,208	0,400	1,61	75,1	н/о

н/о = уровень Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> не определен из-за широких пиков, наблюдавшихся  
через две недели

**Таблица 4**

Анализ активных ингредиентов в образцах, содержащих СМИТ/МИТ и ПАВ,  
после термостарения в течение трех недель

Темп. (°C)	Образец	СМИТ	МИТ	Общая конц. а.и.	Соотнош. а.и.	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
25	СМИТ/МИТ (без стабилизатора)	1,155	0,383	1,54	75,1	2,4
	СМИТ/МИТ (с стабилизатором)	1,231	0,409	1,64	75,1	2,5
	СМИТ/МИТ + ПАВ В - 1,5%	1,188	0,394	1,58	75,1	2,4
	СМИТ/МИТ + ПАВ В - 3,0%	1,153	0,382	1,54	75,1	2,4
	СМИТ/МИТ + ПАВ А - 1,5%	1,200	0,397	1,60	75,1	2,4
	СМИТ/МИТ + ПАВ А - 3,0%	1,199	0,399	1,60	75,1	2,5
25	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 1,5%	Мутный				
	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 3,0%	Мутный				
	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,182	0,392	1,57	75,1	2,4
	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,177	0,392	1,57	75,0	2,4
	40 СМИТ/МИТ (без стабилизатора)	0,804	0,374	1,18	68,2	2,3
	40 СМИТ/МИТ (с стабилизатором)	1,203	0,397	1,60	75,2	2,5
25	40 СМИТ/МИТ + ПАВ В - 1,5%	1,207	0,402	1,61	75,0	2,5
25	Темп. (°C)	Образец	СМИТ	МИТ	Общая конц. а.и.	Соотнош. а.и.
	40 СМИТ/МИТ + ПАВ В - 3,0%	1,166	0,386	1,55	75,1	2,4
	40 СМИТ/МИТ + ПАВ А - 1,5%	1,235	0,411	1,65	75,0	2,5
	40 СМИТ/МИТ + ПАВ А - 3,0%	1,159	0,384	1,54	75,1	2,4
	40 СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 1,5%	Мутный				
25	40 СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 3,0%	Мутный				
	40 СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,206	0,401	1,61	75,0	2,5
	40 СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,247	0,413	1,66	75,1	2,6
	55 СМИТ/МИТ (без стабилизатора)	0,413	0,333	0,75	55,4	2,2
	55 СМИТ/МИТ (с стабилизатором)	1,228	0,405	1,63	75,2	2,5
	55 СМИТ/МИТ + ПАВ В - 1,5%	Мутный				
30	55 СМИТ/МИТ + ПАВ В - 3,0%	Мутный				
	55 СМИТ/МИТ + ПАВ А - 1,5%	1,174	0,392	1,57	75,0	2,4
	55 СМИТ/МИТ + ПАВ А - 3,0%	1,268	0,424	1,69	75,0	2,7
	55 СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 1,5%	Мутный				
	55 СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 3,0%	Мутный				
	55 СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,199	0,398	1,60	75,1	2,5
35	55 СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,169	0,386	1,56	75,2	2,5

40

45

Таблица 5

Анализ активных ингредиентов в образцах, содержащих СМИТ/МИТ и ПАВ,  
после термостарения в течение четырех недель

5	Темп. (°C)	Образец	СМИТ	МИТ	Общая конц. а.и.	Соотн а.и.	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
10	25	СМИТ/МИТ (без стабилизатора)	1,167	0,385	1,55	75,2	2,3
	25	СМИТ/МИТ (с стабилизатором)	1,263	0,415	1,68	75,3	2,5
	25	СМИТ/МИТ + ПАВ В - 1,5%	1,180	0,390	1,57	75,2	2,4
	25	СМИТ/МИТ + ПАВ В - 3,0%	1,155	0,382	1,54	75,2	2,4
	25	СМИТ/МИТ + ПАВ А - 1,5%	1,199	0,396	1,59	75,2	2,4
	25	СМИТ/МИТ + ПАВ А - 3,0%	1,207	0,400	1,61	75,1	2,5
	25	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 1,5%			Мутный		
	25	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 3,0%			Мутный		
	25	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,202	0,395	1,60	75,3	2,4
	25	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,173	0,389	1,56	75,1	2,4
15	40	СМИТ/МИТ (без стабилизатора)	0,710	0,374	1,08	65,5	2,3
	40	СМИТ/МИТ (с стабилизатором)	1,198	0,394	1,59	75,2	2,4
	40	СМИТ/МИТ + ПАВ В - 1,5%	1,202	0,397	1,60	75,2	2,5
	40	СМИТ/МИТ + ПАВ В - 3,0%	1,170	0,386	1,56	75,2	2,4
	40	СМИТ/МИТ + ПАВ А - 1,5%	1,236	0,409	1,65	75,1	2,5
	40	СМИТ/МИТ + ПАВ А - 3,0%	1,159	0,381	1,54	75,3	2,4
	40	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 1,5%			Мутный		
	40	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 3,0%			Мутный		
	25	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,191	0,392	1,58	75,2	2,4
	25	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,221	0,402	1,62	75,2	2,5
20	55	СМИТ/МИТ (без стабилизатора)	0,291	0,313	0,60	48,2	2,2
	55	СМИТ/МИТ (с стабилизатором)	1,204	0,398	1,60	75,2	2,4
	55	СМИТ/МИТ + ПАВ В - 1,5%			Мутный		
	55	СМИТ/МИТ + ПАВ В - 3,0%			Мутный		
	55	СМИТ/МИТ + ПАВ А - 1,5%	1,185	0,392	1,58	75,2	2,4
	55	СМИТ/МИТ + ПАВ А - 3,0%	1,251	0,414	1,66	75,2	2,7
	55	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 1,5%			Мутный		
	55	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-61 - 3,0%			Мутный		
	55	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 1,5%	1,201	0,398	1,60	75,1	2,5
	55	СМИТ/МИТ + TERGITOL L-64 - 3,0%	1,157	0,382	1,54	75,2	2,5

После термостарения в течение 4 недель все образцы, в которых помутнения не наблюдалось, оставались достаточно стабильными.

40

45

Таблица 6  
Остаточное количество суммарного активного ингредиента в процентах  
после термостарения в каждой смеси, содержащей CMIT/MIT и ПАВ

Образец	Темп (°C)	Остаточное количество				
		t = 0	t = 1 неделя	t = 2 недели	t = 3 недели	t = 4 недели
CMIT/MIT (без стабилизатора)	25	100	101	102	102	103
CMIT/MIT (с стабилизатором)	25	100	101	108	103	106
CMIT/MIT + ПАВ В – 1,5%	25	100	102	105	104	103
CMIT/MIT + ПАВ В – 3,0%	25	100	101	104	103	103
CMIT/MIT + ПАВ А – 1,5%	25	100	102	104	104	104
CMIT/MIT + ПАВ А – 3,0%	25	100	104	108	105	106
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 1,5%	25				Мутный	
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 3,0%	25				Мутный	
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 1,5%	25	100	102	106	104	105
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	25	100	101	103	103	103
CMIT/MIT (без стабилизатора)	40	100	97	91	78	72
CMIT/MIT (с стабилизатором)	40	100	98	107	101	100
CMIT/MIT + ПАВ В – 1,5%	40	100	102	106	105	105
CMIT/MIT + ПАВ В – 3,0%	40	100	101	105	104	104
CMIT/MIT + ПАВ А – 1,5%	40	100	105	107	108	108
CMIT/MIT + ПАВ А – 3,0%	40	100	101	104	101	101
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 1,5%	40				Мутный	
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 3,0%	40				Мутный	
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 1,5%	40	100	102	103	106	104
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	40	100	104	109	109	107
Образец	Темп (°C)	Остаточное количество				
		t = 0	t = 1 неделя	t = 2 недели	t = 3 недели	t = 4 недели
CMIT/MIT (без стабилизатора)	55	100	86	72	49	40
CMIT/MIT (с стабилизатором)	55	100	100	109	103	101
CMIT/MIT + ПАВ В – 1,5%	55	100			Мутный	
CMIT/MIT + ПАВ В – 3,0%	55	100			Мутный	
CMIT/MIT + ПАВ А – 1,5%	55	100	101	109	102	103
CMIT/MIT + ПАВ А – 3,0%	55	100	108	113	111	109
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 1,5%	55				Мутный	
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 - 3,0%	55				Мутный	
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 1,5%	55	100	103	110	105	105
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 - 3,0%	55	100	101	106	102	101

Некоторые значения остаточного количества для образцов превышают исходные зарегистрированные значения. Такое превышение 100% возможно связано с испарением некоторого количества воды во время термостарения. Чтобы обеспечить более точную оценку стабильности образцов, суммарное количество активного ингредиента нормализовали на концентрацию  $Mg(NO_3)_2$ , а затем нормализовали на исходную концентрацию CMIT и MIT. Эти результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7

Остаточное количество активного ингредиента в процентах в каждом образце после нормализации на количество  $Mg(NO_3)_2$  для учета упаривания воды в процессе термостарения

Образец	Темп (°C)	Остаточное количество			
		t = 0	t = 1 неделя	t = 3 недели	t = 4 недели
CMIT/MIT (без стабилизатора)	25	100	101	99	100
CMIT/MIT (с стабилизатором)	25	100	96	94	95
CMIT/MIT + ПАВ В – 1,5%	25	100	99	98	99
CMIT/MIT + ПАВ В – 3,0%	25	100	102	100	100
CMIT/MIT + ПАВ А – 1,5%	25	100	97	98	99
CMIT/MIT + ПАВ А – 3,0%	25	100	99	98	98
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 – 1,5%	25		Мутный		
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 – 3,0%	25		Мутный		
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 – 1,5%	25	100	99	98	99
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 – 3,0%	25	100	99	97	99
CMIT/MIT (без стабилизатора)	40	100	97	77	71
CMIT/MIT (с стабилизатором)	40	100	95	92	95
CMIT/MIT + ПАВ В – 1,5%	40	100	99	97	98
Образец	Темп (°C)	Остаточное количество			
		t = 0	t = 1 неделя	t = 3 недели	t = 4 недели
CMIT/MIT + ПАВ В – 3,0%	40	100	100	98	100
CMIT/MIT + ПАВ А – 1,5%	40	100	98	98	99
CMIT/MIT + ПАВ А – 3,0%	40	100	96	98	98
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 – 1,5%	40		Мутный		
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 – 3,0%	40		Мутный		
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 – 1,5%	40	100	99	93	94
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 – 3,0%	40	100	97	93	93
CMIT/MIT (без стабилизатора)	55	100	85	51	42
CMIT/MIT (с стабилизатором)	55	100	94	94	95
CMIT/MIT + ПАВ В – 1,5%	55	100		Мутный	
CMIT/MIT + ПАВ В – 3,0%	55	100		Мутный	
CMIT/MIT + ПАВ А – 1,5%	55	100	97	97	97
CMIT/MIT + ПАВ А – 3,0%	55	100	98	93	94
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 – 1,5%	55		Мутный		
CMIT/MIT + TERGITOL L-61 – 3,0%	55		Мутный		
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 – 1,5%	55	100	98	96	94
CMIT/MIT + TERGITOL L-64 – 3,0%	55	100	98	95	94

Все образцы, которые оставались прозрачными, проявляли стабильность при хранении в течение одного месяца при 55°C, за исключением нестабилизованных образцов, содержащих CMIT/MIT. Остаточное количество не рассчитывали для образцов после хранения в течение 2 недель, так как в этот период времени уровни  $Mg(NO_3)_2$

были рассчитаны с недостаточной точностью.

**Пример 12**

Эффективность комбинаций, содержащих СМИТ/МИТ и ПАВ в соотношении 1:1

Среды

5 Агар-триптиказо-соевый бульон (TSBA)

Взвесить 30 г триптиказо-соевого бульона (Difco) и 15 г агара (Difco) в колбу объемом 2 л.

Добавить 1000 мл диеонизированной воды.

Стерилизовать в автоклаве при 121°C в течение 20 мин.

10 Разлить 25 мл TSBA в стерильные планшеты (VWR).

Картофельно-декстрозный бульон (PDB)

Взвесить 24 г картофельно-декстрозного бульона (Difco) в колбу объемом 2 л.

Добавить 1000 мл диеонизированной воды.

Тщательно перемешать, прокипятить в течение 1 мин.

15 Стерилизовать в автоклаве при 121°C в течение 20 мин.

Дектрозный агар Сабуро (SDA)

Взвесить 195 г декстрозного агара Сабуро (Difco) в колбу объемом 2 л.

Добавить 1000 мл диеонизированной воды.

Тщательно перемешать, прокипятить в течение 1 мин.

20 Стерилизовать в автоклаве при 121°C в течение 20 мин.

Охладить в водяной бане, затем в среду добавить 100 мкл гентамицина (Sigma) и 100 мкл стрептомицина (Sigma).

Разлить 25 мл SDA в стерильные чашки (VWR).

Триптиказо-соевый бульон (TSB)

25 Взвесить 30 г триптиказо-соевого бульона (Difco) в колбу объемом 2 л.

Добавить 1000 мл диеонизированной воды.

Стерилизовать в автоклаве при 121°C в течение 20 мин.

Концентрированная среда Alga-Gro

Взвесить 0,3 г агара (Difco) в колбу объемом 100 мл.

30 Добавить 60 мл диеонизированной воды.

Стерилизовать в автоклаве при 121°C в течение 20 мин.

Охладить.

Добавить 1,2 мл концентрированной среды Alga-Gro (Carolina Biological Supply).

Методы

35 Оценка минимальной ингибирующей концентрации высокого разрешения

Микроорганизмы

Следующие исследованные микроорганизмы получали из американской коллекции клеточных культур American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, VA, США).

	Штамм	Источник
40	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
	<i>Candida albicans</i>	ATCC 2091
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5 ATCC 18824
45	<i>Chlorella sp.</i>	ATCC 30582/ UTEX 26

Культивирование микроорганизмов

Бактерии выращивали на среде TSBA при 30°C в течение 48 ч. Грибы выращивали

на среде SDA при 25°C в течение 48 ч. Каждую чашку промывали приблизительно 5 мл фосфатного буфера, pH 7,2. Суспензию культуры смешивали с равным объемом стерильного 50%-ного глицерина. Полученную суспензию распределяли по 1 мл в криофлаконы объемом 2 мл и хранили при -70°C. Перед испытаниями микроорганизмы извлекали из замороженных криофлаконов. Бактерии культивировали в среде TSBA при 30°C в течение 48 ч. Грибы выращивали на среде SDA при 30°C в течение 48 ч.

5 Водоросли выращивали и культивировали в жидкой культуральной среде (Bold's 3N). Водоросли собирали, центрифугировали при 600 g в течение 6 мин и ресуспендировали в культуральной среде. Виды водорослей смешивали и наносили по 10 100 мкл на содержащие биоциды агаровые чашки. Чашки инкубировали при постоянном облучении светом при 30°C.

15 Для приготовления среды для водорослей 20 г агара Bacto добавляли в 980 мл дистиллированной воды, стерилизовали в автоклаве при 121°C в течение 30 мин, помещали на водяную баню при 50°C и затем добавляли 20 мл среды Bold's 3N (исходный раствор 50X) в каждый литр. Части агара в зависимости от вида переносили в стерильные колбы, в которые были добавлены требуемые количества биоцида, а затем разливали в чашки Петри. В чашки Петри добавляли ~20 мл конечной среды для водорослей, содержащей биоцид.

#### Использованные приборы и оборудование

	<u>Прибор/оборудование</u>	<u>Марка/Модель</u>
	Аналитические весы	Sartorius
	Инкубатор	Lab-Line Instruments, Inc.
25	Автоклав	Amsco
	Спектрофотометр УФ/Вид	Spectronic 20 GENESYS

30 Минимальную концентрацию биоцидов, требуемую для подавления роста бактерий и грибов, определяли методом определения минимальной ингибирующей концентрации высокого разрешения (HRMIC). Различные количества каждого биоцида добавляли в лунки 96-луночного микротитрационного планшета, содержащие среду. В ходе анализа HRMIC для бактерий использовали триптиказо-соевый бульон (TSB), а для грибов картофельно-декстрозный бульон (PDB). Бактерии в стационарной фазе культивировали в течение ночи при 30°C в инкубаторе с качалкой (125 поступательно-вращательных движений в минуту) в TSB. Готовили суспензии грибов в фосфатном буфере и разбавляли в PDB. Ночные культуры калибровали по величине оптического поглощения OD=0,40, что соответствовало количеству бактерий в исходной суспензии  $\sim 1,0 \times 10^8$  КОЕ/мл. Затем готовили соответствующие разбавления в соответствующей среде для анализа и вносили инокулят в каждую лунку для бактерий в количестве приблизительно  $10^6$  КОЕ/мл или 40 для грибов в количестве  $10^5$  КОЕ/мл. Для всех организмов готовили клеточные суспензии в трех повторах. Микротитрационные планшеты инкубировали при 30°C в течение 24 ч для бактерий и при 25°C в течение 7 сут для грибов, затем в каждой лунке регистрировали присутствие или отсутствие микробного роста по помутнению в каждой лунке. Водоросли выращивали и поддерживали в жидкой культуральной среде Bold's 3N. Водоросли собирали, центрифугировали при 600 g в течение 6 мин и ресуспендировали в культуральной среде. Виды водорослей смешивали и наносили по 100 мкл на содержащие биоциды агаровые планшеты. Планшеты инкубировали при постоянном облучении светом при 30°C. После инкубации в агаровых планшетах,

содержащих биоцид, регистрировали наличие роста визуально по сравнению с контрольными планшетами. Концентрацию соединения в первой лунке микротитрационного планшета, в которой отсутствует рост, принимали за минимальную ингибирующую концентрацию (MIC) микробиоцида. Анализ MIC высокого разрешения

5 (HRMIC) характеризуется более высокой точностью по сравнению с типичным методом определения MIC с использованием двухкратных серийных разведений, так как конечные значения расположены более близко, что позволяет с большей точностью различать исследуемые соединения. Величину MIC для каждого микробиоцида определяли по средней величине для трех анализов с различными инокулятами, при этом каждый

10 инокулят анализировали в трех повторах для каждой бактерии, гриба и водоросли.

Концентрация (част./млн активного ингредиента) биоцидов CMIT/MIT, использованные для определения HRMIC

1,5% CMIT/MIT				1,5% CMIT/MIT + ПАВ А			
1	2	3	4	5	6	7	8
15,0	1,50	0,50	0,015	15+15	1,50+1,50	0,15+0,15	0,015+0,015
12,0	1,20	0,120	0,012	12+12	1,20+1,20	0,12+0,12	0,012+0,012
9,0	0,90	0,090	0,009	9+9	0,90+0,90	0,09+0,09	0,009+0,009
7,5	0,75	0,075	0,0075	7,5+7,5	0,75+0,75	0,075+0,075	0,0075+0,0075
6,0	0,60	0,060	0,0060	6+6	0,60+0,60	0,06+0,06	0,006+0,006
4,5	0,45	0,045	0,0045	4,5+4,5	0,45+0,45	0,045+0,045	0,0045+0,0045
3,0	0,30	0,030	0,0030	3+3	0,30+0,30	0,03+0,03	0,003+0,003
0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000

15 В случае штамма зеленых водорослей величину MIC определяли в чашках Петри, содержащих среду Bold's 3N. Эта среда была выбрана из-за ее способности наилучшим образом поддерживать рост водорослей. Микробиоцид 1,5% CMIT/MIT и смесь 1,5% CMIT/MIT + ПАВ А («смесь 1:1») добавляли в агаровую среду до концентрации активного ингредиента 0,75, 1,5, 3,0, 6,0 и 12,0 част./млн.

20 Инокулят водорослей получали после сбора водорослей, центрифугирования при 600 g в течение 6 мин и ресуспенсирования в культуральной среде. 100 мкл каждой одно-недельной культуры водорослей высевали штихом на поверхность агарового планшета, содержащего различные концентрации биоцида и выдерживали в инкубаторе при освещении при 30°C. Самую низкую концентрацию биоцида, при которой подавляется рост (визуально наблюдаемое зеленое окрашивание) водорослей на 25 поверхности агара после инкубации в течение 7 сут при 30°C принимали за MIC. Образцы анализировали в трех повторах.

30 Антибактериальная активность 1,5% CMIT/MIT + 1,5% ПАВ А («смесь 1:1»)

35 Величины MIC смеси 1:1 и 1,5% CMIT/MIT определяли в присутствии смесей бактерий (эксперимент 1, 2 и 3) или грибов (4, 5 и 6) с использованием метода MIC высокого разрешения в среде TSB или PDB, как описано ранее. Величины MIC для смеси 1:1 и 1,5% CMIT/MIT определяли в присутствии водорослей с использованием метода MIC на планшетах в агаре Bacto, как описано ранее. Результаты свидетельствуют о том, что смесь 1:1 и 1,5% CMIT/MIT является высоко эффективным биоцидом, который подавляет 40 рост бактерий в низких концентрациях. Кроме того величина MIC смеси аналогична величине MIC 1,5% CMIT/MIT. Количество активного агента в част./млн при определении 45 величины MIC относится количеству CMIT/MIT, присутствующего в исследуемых условиях.

Эксперимент 1. Величина MIC для смеси 1:1 и 1,5 CMIT/MIT в присутствии бактерий

	Микроорганизмы	Смесь 1:1		1,5% CMIT/MIT	
		MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)	MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 15442) и <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	0,3	0	3	0
10 Эксперимент 2. Величина MIC для смеси 1:1 и 1,5 CMIT/MIT в присутствии бактерий					
	Микроорганизмы	Смесь 1:1		1,5% CMIT/MIT	
		MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)	MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 15442) и <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	0,3	0	4	0,87
20 Эксперимент 3. Величина MIC для смеси 1:1 и 1,5 CMIT/MIT в присутствии бактерий					
	Микроорганизм	Смесь 1:1		1,5% CMIT/MIT	
		MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)	MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)
25	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 15442) и <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	0,3	0	3,5	0,87
30 Эксперимент 1. Величина MIC для смеси 1:1 и 1,5 CMIT/MIT в присутствии грибов					
	Микроорганизм	Смесь 1:1		1,5% CMIT/MIT	
		MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)	MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)
35	<i>Candida albicans</i> (ATCC 2091) и <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ATCC 18824)	0,06	0	0,45	0
40 Эксперимент 2. Величина MIC для смеси 1:1 и 1,5 CMIT/MIT в присутствии грибов					

Микроорганизм	Смесь 1:1		1,5% CMIT/MIT	
	MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)	MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)
<i>Candida albicans</i> (ATCC 2091) и <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ATCC 18824)	0,045	0	3	0

10 Эксперимент 3. Величина MIC для смеси 1:1 и 1,5% CMIT/MIT в присутствии грибов

Микроорганизм	Смесь 1:1		1,5% CMIT/MIT	
	MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)	MIC (част./млн акт. агента)	CO (+/-)
<i>Candida albicans</i> (ATCC 2091) и <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ATCC 18824)	0,06	0	0,65	0,087

20 Величина MIC для смеси 1:1 и 1,5% CMIT/MIT в присутствии водорослей (*Chlorella vulgaris* (ATCC 30582))

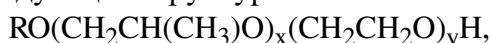
Концентрация биоцида (част./млн)	Наблюдаемый рост в репликах					
	Реплика 1		Реплика 2		Реплика 3	
	CMIT/ MIT	Смесь 1:1	CMIT/MIT	Смесь 1:1	CMIT/ MIT	Смесь 1:1
0 (контроль)	+	+	+	+	+	+
0,75	-	-	-	-	-	-
1,5	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-

Величину MIC определяли при отсутствии роста во всех репликах.

### (57) Формула изобретения

1. Водная бактерицидная композиция, включающая: (а) 1,5 мас.% смеси 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она и (б) 5 мас.% неионного ПАВ, содержащего С<sub>8</sub>алкильную группу, 5 молей полимеризованных звеньев пропиленоксида и 9 молей полимеризованных звеньев этиленоксида, причем массовое соотношение указанной смеси и указанного неионного ПАВ составляет 1:3,3.

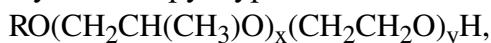
40 2. Композиция по п. 1, в которой указанное неионное ПАВ характеризуется следующей структурой:



45 где R означает С<sub>8</sub>алкильную группу, x равен 5, а у равен 9.

3. Композиция по п. 2, в которой R означает 2-этилгексил, у равен 9, а массовое соотношение 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она составляет от 2,5:1 до 3,5:1.

4. Синергетическая бактерицидная композиция, включающая (а) смесь 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она и (б) неионное ПАВ следующей структуры:



<sup>5</sup> где R означает C<sub>8</sub>алкильную группу, x равен 5, а у равен 9, причем массовое соотношение указанной смеси и указанного неионного ПАВ составляет 1:3,3.

5. Синергетическая бактерицидная композиция по п. 4, в которой массовое соотношение 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она составляет от 2,5:1 до 3,5:1.

<sup>10</sup> 6. Синергетическая бактерицидная композиция по п. 5, в которой R означает 2-этилгексил, а у равен 9.

<sup>15</sup> 7. Водная бактерицидная композиция, включающая: (а) смесь 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-4-изотиазолин-3-она и (б) неионное ПАВ, содержащее C<sub>8</sub>алкильную группу, 5 молей полимеризованных звеньев пропиленоксида и 9 молей полимеризованных звеньев этиленоксида, причем массовое соотношение указанной смеси и указанного неионного ПАВ составляет 1:3,3.

20

25

30

35

40

45